

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
26. Februar 2004 (26.02.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/016810 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12Q 1/68

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2003/002159

(22) Internationales Anmeldedatum:
23. Juni 2003 (23.06.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 34 901.0 26. Juli 2002 (26.07.2002) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): METAGEN PHARMACEUTICALS GMBH
[DE/DE]; Oudenarder Strasse 16, 13347 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SCHWIDETZKY, Uta
[DE/DE]; Oudenarder Strasse 16, 13347 Berlin (DE).

(74) Anwälte: JUNGBLUT, Bernhard usw.; Albrecht, Lüke
& Jungblut, Gelfertstrasse 56, 14195 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

BEST AVAILABLE COPY

(54) Title: USE OF AN MRP4 BINDING SUBSTANCES FOR THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF CANCER

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON AN MRP4 BINDENDEN SUBSTANZEN ZUR DIAGNOSE UND BEHANDLUNG VON KREBSERKRANKUNGEN

(57) Abstract: The invention relates to the uses of Mrp4 for the diagnosis and treatment of prostate and/or bladder and/or ovarian tumours, and for screening for substances for such purposes.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Verwendungen von Mrp4 zur Diagnose und Behandlung von Prostata- und/oder Blasen- und/oder Ovarialtumoren, sowie zum Screenen nach Substanzen für solche Zwecke.

WO 2004/016810 A2

Verwendungen von an Mrp4 bindenden Substanzen zur Diagnose und Behandlung von Krebserkrankungen.

5 Gebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft neue Verwendungen von Mrp4 oder daraus abgeleiteten Sequenzen zum Screenen nach daran bindenden Substanzen, sowie die Verwendung von an Mrp4 bindenden Substanzen zur Diagnose und/oder Behandlung von Tumor-Erkrankungen.

Hintergrund der Erfindung und Stand der Technik

15

Mrp4 gehört zu ATP-Bindungskassetten Superfamilie der Transportproteine, welche die Energie der ATP Hydrolyse für ihre Aktivität nutzen. Gemäß der Literaturstelle M.A. Barrand et al., Gen. Pharmacol. 28:639-645 (1997) ist Mrp4 mit Veränderungen der Akkumulation und Verteilung von Wirkstoffen assoziiert. Im Zusammenhang mit dem antiviralen Wirkstoff PMEPA, den Antikrebs-Wirkstoffen 6-Mercaptopurin, 6-Thioguanin sowie Estradiol 17- β -D-glucuronid ist der Transport dieser Wirkstoffe durch Efflux durch die Zellmembran vermittelt Mrp4 bekannt (K. Lee et al., J Natl Cancer Inst 92:1934-1940 (2000); Z.S. Chen et al., JBC 276(36):33747-33754 (2001)). Mrp4 wurde in Prostata-Normalgewebe sowie in stabil transifizierten NIH3T3 Zellen sowohl im Zytoplasma als auch in der Membran detektiert (K. Lee et al., J Natl Cancer Inst 92:1934-1940 (2000)). Mrp4 wird vorwiegend in Prostata-Normalgeweben und in geringerem Maße in verschiedenen anderen Normalgeweben exprimiert. Weiterhin ist Expression

in diversen Tumorzelllinien zu beobachten (P. Borst et al., J Natl Cancer Inst 92:1295-1302 (2000)).

Resistenz gegen Chemotherapeutika ist ein großes und an-
5 dauerndes Problem in der Behandlung von Krebserkrankungen. Manche bösartigen Tumore reagieren von Anfang an schlecht auf Chemotherapie und sind insofern anscheinend intrinsisch resistent. Andere Tumore reagieren anfänglich gut auf eine
10 Chemotherapie, aber entwickeln im Verlauf der Chemotherapie offenbar eine Resistenz, was entweder auf einen Selektionsprozess unter den malignen Zellen oder eine zelluläre Antwort auf den Wirkstoff zurückzuführen sein dürfte. Dieses weit verbreitete Phänomen wird MDR (Multi-Drug Resistance) genannt.

15

Technisches Problem der Erfindung

Der Erfindung liegt das technische Problem zugrunde, pharmazeutische Zusammensetzungen zur Diagnose und/oder zur
20 Behandlung von Prostata- und/oder Blasen- und/oder Ovarkrebs anzugeben sowie Mittel zu deren Identifizierung. Der Erfindung liegt insbesondere das technische Problem zu Grunde, resistente Tumore zu identifizieren und zu
25 behandeln.

Grundzüge der Erfindung und bevorzugte Ausführungsformen.

30 Die Erfindung lehrt die Verwendung einer für Mrp4 codierenden Nukleinsäure und/oder eines Mrp4 Peptids oder Proteins zur Detektion von Prostata- und/oder Blasen- und/oder Ovartumoren oder zur Detektion eines Risikos der

Erkrankung an Prostata- und/oder Blasen- und/oder Ovar-
tumoren, insbesondere von Tumoren mit einer erhöhten Resis-
tenz, wobei eine Prostata- oder Blasen- oder
Ovar-Gewebeprobe, beispielsweise in vitro, auf Übertran-
5 skription von Mrp4 RNA oder auf Überexpression eines Mrp4
Proteins untersucht wird. Eine an für Mrp4 codierende Nuk-
leinsäure oder eine an Mrp4 Protein oder Peptid bindende
Detektorsubstanz, vorzugsweise enthaltend eine Reporter-
gruppe, kann zur Detektion verwendet werden, wobei Bindung
10 besagter Nukleinsäure und/oder besagten Proteins oder Pep-
tids an die Detektorsubstanz halbquantitativ oder quanti-
tativ detektiert wird.

Die Erfindung lehrt weiterhin die Verwendung einer Mrp4
15 RNA oder eines Mrp4 Proteins oder Peptids zum Screenen
nach daran bindenden Substanzen, insbesondere prospektiven
Wirkstoffen zur Inhibierung von besagter RNA oder besagtem
Protein oder Peptid oder prospektiven Detektorsubstanzen,
wobei eine prospektive Substanz oder eine Mischung solcher
20 prospektiver Substanzen mit besagter RNA oder besagtem
Protein oder Peptid kontaktiert wird, wobei mit einem
Bindungsassay Bindungsereignisse festgestellt werden, und
wobei eine bindende prospektive Substanz, ggf. nach Dekon-
volutierung, selektiert wird.

25

Die Erfindung lehrt schließlich die Verwendung einer Mrp4
inhibierenden oder daran bindenden Substanz zur Herstel-
lung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung
von Prostata- und/oder Blasen- und/oder Ovar-tumoren,
30 insbesondere zur Behandlung resistenter Tumore. Die Sub-
stanz kann ein Antikörper sein, welcher durch Immunis-
ierung eines nicht-menschlichen Säugetiers mit einem Mrp4
Peptid oder Protein, mit hierfür codierender cDNA

transfizierte Zellen, mit endogen ein solches Peptid oder Protein exprimierenden Tumorzellen, oder mit rekombinant hergestellten Mrp4 Peptiden oder Proteinen, erhältlich ist, oder ein Phage-Display-Antikörper sein. Die Substanz
5 kann aber auch eine Mimikryverbindung eines Antikörpers gegen ein Mrp4 Peptid oder Protein sein. Die Substanz kann schließlich ein Aptamer, eine antisense RNA, oder ein Ribozym sein. Die Substanz kann zusätzlich, insbesondere im Falle eines bispezifischen Antikörpers oder einer Mimikry-
10 verbindung hierzu, eine zytotoxische und/oder immunstimulierende Komponente tragen. Die pharmazeutische Zusammensetzung kann zur lokalen Applikation in Tumorzellen enthaltendem Gewebe hergerichtet sein.

15 Die Erfindung läßt sich im Rahmen eines Verfahrens zur Diagnose einer Prostata- und/oder Blasen- und/oder Ovariumerkrankung verwenden, wobei eine Detektorsubstanz in einer Ausführungsform mit einer Reportergruppe in zu untersuchendes Gewebe, ggf. in vitro nach Gewebeentnahme,
20 appliziert wird, wobei das zu untersuchende Gewebe dann einer Detektionsverfahrenstufe unterworfen wird, welche sensitiv für die Reportergruppe ist, und wobei im Fall der Detektion eines definierten Mindestwertes der Reportergruppe im Gewebe das Gewebe als, ggf. resistente, Tumorzellen enthaltend qualifiziert wird, sowie eines
25 Verfahrens zur Behandlung einer Prostata- und/oder Blasen- und/oder Ovariumerkrankung, insbesondere resistenter Tumore, wobei eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung in einer physiologisch wirksamen Dosis einem
30 Patienten dargereicht wird, wobei optional gleichzeitig, davor, oder danach ein hiervon verschiedener, üblicher Antikrebs-Wirkstoff in gleicher oder verschiedener Darreichungsform dargereicht wird.

Die Erfindung betrifft schließlich eine pharmazeutische Zusammensetzung enthaltend zumindest zwei Komponenten A und B, wobei Komponente A eine Substanz nach einem der

5 Ansprüche 4 bis 8 ist, wobei die Komponente B ein (üblicher) Antikrebs-Wirkstoff ist, wobei die Komponenten A und B alternativ hergerichtet sein können i) als räumlich separate Komponenten eines Mehrkomponentenpräparates, bestimmt zur gleichzeitigen oder aufeinanderfolgenden Dar-

10 reichung und galenisch hergerichtet als gleiche oder verschiedene Darreichungsformen, oder ii) als Kombinationspräparat in Form einer räumlich verbundenen und einheitlichen Darreichungsform.

15 Die Erfindung beruht auf der Erkenntnis, daß Mrp4 überexprimiert ist in Prostata- und Blasen- und/oder Ovarumtoren, i.e. in besagten Tumorgeweben ist die Expression höher, verglichen mit normalen Zellen gleichen Gewebes, und der daraus herleitbaren technische Lehre, daß Mrp4 als

20 Zielmolekül bei der Diagnostik und Therapie dieser Erkrankungen, insbesondere im Falle intrinsischer Resistenzen oder erworbenen oder erwerbbarer Resistenzen, eingesetzt werden kann. Mrp4 kann also als Marker zur Identifizierung von Tumorzellen, insbesondere von resis-

25 tenten Tumorzellen, in den besagten Tumorgeweben dienen. Auf der anderen Seite bietet die Inhibierung von Mrp4 die Möglichkeit, insbesondere auch in Verbindung mit üblichen Wirkstoffen der Chemotherapie, Resistenzen zu überwinden oder erst gar nicht auftreten zu lassen. Insofern kann die

30 Erfindung auch zur Prävention einer Entwicklung einer Resistenz genutzt werden. Denn durch Verhinderung des Effluxes verabreichter Chemotherapeutika aufgrund der

Inhibierung des Mrp4 ist die anhaltende Wirkung dieser Chemotherapeutika in allen Zielzellen sichergestellt.

Im Rahmen der Erfindung kann es sich empfehlen, im Vorfeld
5 einer Behandlung mit einer erfindungsgemäßen pharmazeu-
tischen Zusammensetzung eine Probe aus einem Gewebe,
welches als Tumorgewebe mit anderen Methoden identifiziert
ist, zu entnehmen und die Gewebeprobe auf Expression bzw.
Überexpression von Mrp4 zu untersuchen. In diesem Zusam-
10 menhang ist von besonderer Bedeutung, daß Mrp4 Substrat-
spezifität aufweist, beispielsweise zu zyklischen
Nukleotiden, Purinanalogen und nukleosidbasierten antivi-
rale Wirkstoffen; der Erhalt des Expressionsmusters zu
Mrp4 kann also die Auswahl potentiell geeigneter
15 Wirkstoffe bzw. den Ausschluss potentiell ungeeigneter
Wirkstoffe bzw. Chemotherapeutika erleichtern. Alternativ
kann mit einer erfindungsgemäßen Detektorsubstanz zur Di-
agnose in vivo auf Mrp4 Phänotyp getestet werden. Wird
eine Überexpression von Mrp4 gegenüber Normalgewebe
20 gleichen Typs festgestellt, so ist die Anwendung der er-
findungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung
indiziert.

Von eigenständiger Bedeutung im Rahmen der Erfindung ist,
25 daß die Erfindung besonders vorteilhaft im Falle androgen-
sensitiver Tumore bzw. Tumorzellen einsetzbar ist.

Im Falle bispezifischer an Mrp4 bindender Substanzen ist
es bevorzugt, wenn die an Mrp4 bindende Substanz
30 zusätzlich eine zytotoxische und/oder immunstimulierende
Komponente trägt. Dies führt dann letztendlich dazu, dass
praktisch ausschließlich Tumorzellen getötet werden, sei
es durch die Zytotoxizität, sei es durch Angriff durch das

stimulierte Immunsystem, während Normalzellen in dem Gewebe praktisch vollständig erhalten bleiben. Im Falle des Einsatzes einer zytotoxischen Komponente wird es sich besonders empfehlen, wenn die pharmazeutische Zusammen-
5 setzung zur lokalen Applikation in Tumorzellen enthaltend dem Gewebe hergerichtet ist, beispielsweise zur Injektion.

Die Erfindung betrifft des weiteren ein Mrp4 Protein oder Peptid enthaltend eine Teilsequenz von zumindest 4 Amino-
10 säuren aus Seq.-ID 10, insbesondere aus Seq.-ID 11, oder enthaltend Seq.-ID 10, insbesondere Seq.-ID 11, oder bestehend aus einer solchen Sequenz, nicht jedoch ein Protein oder Peptid gemäß oder codiert durch Genbank AccNo NM_005845, AY_081219 und XM_036453. Die Erfindung betrifft
15 schließlich eine für ein solches Protein oder Peptid codierende Nukleinsäure, insbesondere eine Sequenz gemäß Seq.-ID 9 oder eine Teilsequenz hieraus. Ein erfindungsgemäßes Protein bzw. Peptid bzw. eine hierfür codierende Nukleinsäure läßt sich in allen vorstehend und folgend
20 beschriebenen Zusammenhängen einsetzen.

Definitionen.

Für Mrp4 sind die folgenden Sequenzen bekannt: Genbank
25 AccNo NM_005845, AY_081219 und XM_036453.

Im Rahmen dieser Beschreibung wird die Bezeichnung Mrp4 für alle humanen Isoformen, bekannt oder neu, auf Nukleinsäuren- oder Aminosäurenbasis, verwendet. Mit diesen Begriffen mit umfaßt sind auch die im Rahmen dieser
30 Beschreibung offenbarten kurzen Sequenzen, welche aus den Isoformen stammen, beispielsweise Immunisierungssequenzen. Weiterhin mit umfaßt sind auch Homologe, wobei die

Homologie zumindest 80%, vorzugsweise mehr als 90%,
höchstvorzugsweise mehr als 95%, beträgt. Im Falle der
Nukleinsäuresequenzen sind auch komplementäre oder al-
lelische Varianten mit umfaßt. Weiterhin sind Sequenzen
5 umfaßt, welche lediglich Teilsequenzen der explizit offen-
barten Sequenzen, beispielsweise ein Exon oder mehrere
Exons, oder komplementärer Sequenzen hierzu darstellen,
mit der Maßgabe, daß diese Teilsequenzen im Falle der Nuk-
leinsäuren eine für eine Hybridisierung mit einer er-
10 findungsgemäßen Nukleinsäure hinreichende Länge, zumindest
30 bis 50 Basen, aufweisen und im Falle der Proteine bzw.
Peptide mit zumindest gleicher Affinität an ein protein-
oder peptidspezifisches Zielmolekül binden. Weiterhin sind
alle mit erfindungsgemäßen Nukleinsäuren hybridisierende
15 Nukleinsäuren umfaßt, nämlich solche, die unter stringen-
ten Bedingungen (5°C bis 25°C unterhalb der Aufschmelztem-
peratur; siehe ergänzend J.M. Sambrook et al., A
laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press
(1989) und E.M. Southern, J Mol Biol, 98:503ff (1975))
20 hybridisieren. Es versteht sich, daß die Erfindung auch
Expressionskassetten umfaßt, i.e. eine oder mehrere der
erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen mit mindestens
einer Kontroll- oder regulatorischen Sequenz. Eine solche
Expressionskassette kann auch eine Sequenz für ein
25 bekanntes Protein umfassen, wobei im Zuge der Translation
ein Fusionsprotein aus einem bekannten Protein und einem
erfindungsgemäßen Protein oder Peptid entsteht. Ebenso
sind auch antisense Sequenzen zu den vorstehenden Nuklein-
säuresequenzen umfaßt. Schließlich sind RNA sowie damit
30 korrelierende DNA und umgekehrt umfaßt, ebenso wie geno-
mische DNA als auch korrelierte cDNA und umgekehrt und
RNAi.

Im Zusammenhang mit erfindungsgemäßen Verwendungen umfassen die Begriffe der Mrp4 Nukleinsäuren oder Protein bzw. Peptide neben den Volllängen der angesprochenen Sequenzen (siehe auch vorstehender Absatz) auch Teilsequenzen heraus, und zwar mit einer Mindestlänge von 12 bis 30 Nukleotiden, beispielsweise 30 bis 90 Nukleotiden, im Falle der Nukleinsäuren und einer Mindestlänge von 4 bis 10 Aminosäuren, beispielsweise 10 bis 30 Aminosäuren, im Falle der Peptide oder Proteine.

10

Der Begriff der Behandlung umfaßt auch die Prophylaxe.

Als Inhibitor ist eine Verbindung oder Substanz bezeichnet, welche entweder die Bildung von Mrp4 inhibiert oder gebildetes Mrp4 in der Aktivität reduziert, bezogen auf die Mrp4 Aktivität in Abwesenheit des Inhibitors. Insofern kann ein Inhibitor einerseits eine Substanz sein, welche in der Entstehungskaskade von Mrp4 inhibierend eingreift. Auf der anderen Seite kann ein Inhibitor eine Substanz sein, welche mit gebildetem Mrp4 eine Bindung eingeht, und zwar dergestalt, dass weitere physiologische Wechselwirkungen mit endogenen Substanzen zumindest reduziert sind.

25 Mimikry-Moleküle sind Verbindungen, die den variablen Bereich, insbesondere den Bindungsbereich eines Antikörpers, nachbilden und an gleicher Stelle eines Zielmoleküls binden, wie der zu Grunde liegende Antikörper.

30 Der Begriff der Antikörper umfaßt polyklonale Antikörper, monoklonale Antikörper, nicht-humane, humane und humanisierte Antikörper, antiidiotypische Antikörper sowie Phage-Display-Antikörper, aber auch chimäre Antikörper sowie

spezifische Fragmente der leichten und/oder der schweren Kette des variablen Bereiches zu Grunde liegender Antikörper vorstehender Art. Die Herstellung bzw. Gewinnung solcher Antikörper mit vorgegebenen Immunogenen ist dem
5 Durchschnittsfachmann wohl vertraut und braucht nicht näher erläutert zu werden. Weiterhin umfaßt der Begriff der Antikörper bispezifische Antikörper. Bispezifische Antikörper kombinieren eine definierte Immunzellaktivität mit einer spezifischen Tumorzellerkennung, wodurch Tu-
10 morzellen getötet werden. Ein bispezifischer Antikörper bindet einerseits an ein Auslösemolekül der Immun-Effektorzelle (z.B. CD3, CD16, CD64) und andererseits an Antigene der Tumorzielzelle.

15 Die galenische Herrichtung einer erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung kann in fachüblicher Weise erfolgen, und zwar sowohl zur systemischen als auch zur lokalen Verabreichung. Als Gegenionen für ionische Verbindungen kommen beispielsweise Na^+ , K^+ , Li^+ oder
20 Cyclohexylammonium infrage. Geeigente feste oder flüssige galenische Zubereitungsformen sind beispielsweise Granulate, Pulver, Dragees, Tabletten, (Mikro-) Kapseln, Suppositorien, Sirupe, Säfte, Suspensionen, Emulsionen, Tropfen oder injizierbare Lösungen (i.v., i.p., i.m.)
25 sowie Präparate mit protrahierter Wirkstoff-Freigabe, bei deren Herstellung übliche Hilfsmittel wie Trägerstoffe, Spreng-, Binde-, Überzugs-, Quellungs-, Gleit- oder Schmiermittel, Geschmacksstoffe, Süßungsmittel und Lösungsvermittler, Verwendung finden. Als Hilfsstoffe sei
30 Magnesiumcarbonat, Titandioxyd, Lactose, Mannit und andere Zucker, Talcum, Milcheiweiß, Gelatine, Stärke, Zellulose und ihre Derivate, tierische und pflanzliche Öle wie Lebertran, Sonnenblumen-, Erdnuss- oder Sesamöl,

Polyethylenglycole und Lösungsmittel, wie etwa steriles Wasser und ein- oder mehrwertige Alkohole, beispielsweise Glycerin, genannt. Eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung ist dadurch herstellbar, dass mindestens
5 ein erfindungsgemäß verwendeter Mrp4 Inhibitor in definierter Dosis mit einem pharmazeutisch geeigneten und physiologisch verträglichen Träger und ggf. weiteren geeigneten Wirk-, Zusatz- oder Hilfsstoffen mit definierter Inhibitor-dosis gemischt und zu der gewünschten
10 Darreichungsform hergerichtet ist.

Tumorzellen überexprimieren Mrp4 spezifisch bzw. differenziell, wenn Mrp4 im Vergleich zu Normalzellen des gleichen Gewebes in zumindest 10% höherer Menge exprimiert wird.

15

Zytotoxische Komponenten bzw. Gruppen sind Verbindungen, welche direkt oder indirekt Apoptose einleiten bzw. zu Nekrose führen oder zumindest wachstumshemmend wirken.

Diese können außer an eine erfindungsgemäße Substanz

20 gekoppelt auch als Komponente B eingesetzt werden. Solche Gruppen bzw. Verbindungen können neben Radioisotopen (z.B. 188Re, 213Bi, 99mTc, 90Y, 131I, 177Lu) insbesondere Zytostatika sein, welche in der Tumorthherapie eingesetzt werden. Beispiele hierfür sind: Alkylantien (z.B.

25 Mechlorethamin, Ifosfamid, Chlorambucil, Cyclophosphamid, Melphalan, Alkylsulfonate, Busulphan, Nitrosoharnstoffe, Carmustin, Lomustin, Semustin, Triazene, Dacarbazin), Antimetaboliten (z.B. Folsäure-Antagonisten, Methotrexat, Pyrimidin-Analoga, Fluoruracil, Fluordesoxyuridin, Cytarabin, Gemcitabin, Purin-Analoga, Mercaptopurin), Mitosehemmer (z.B. Vincaalkaloide, Vincristin, Vinblastin, Paclitaxal, Docetaxel, Protaxel), Epipodophyllotoxine (z.B. Etoposid, Teniposid), Antibiotika (z.B.

Dactinomycin, Daunorubicin, Idarubicin, Anthracycline, Bleomycin, L-Asparaginase), Platinkomplexverbindungen (z.B. Cisplatin), Hormone und verwandte Verbindungen (z.B. Nebennierenrindensteroid, Aminogluthetimid, Gestagene, 5 Östrogene, Androgene, Antiöstrogene, Tamoxifen, Steroidanaloga, Flutamid). Bei Bindung einer solchen Verbindung mit einer an Mrp4 bindenden Substanz erfolgt die Kopplung dergestalt, daß die Affinität zu Mrp4 um nicht mehr als 90%, vorzugsweise 50%, bezogen auf die Substanz ohne zyto-
10 statische Gruppe, reduziert ist und die zytostatische Wirkung der Gruppe um nicht mehr als 90%, vorzugsweise 50%, bezogen auf die Verbindung ohne Substanz, reduziert ist.

15 Eine immunstimulierende Komponente ist meist ein Protein oder ein wirksamer Bestandteil hiervon, welches Zellen des Immunsystems stimuliert. Beispiele hierfür sind: Zytokine, wie M-CSF, GM-CSF, G-CSF, Interferone, wie IFN-alpha, -beta, -gamma, Interleukine wie IL-1 bis -16 (außer -8),
20 human LIF, Chemokine wie Rantes, MCAF, MIP-1-alpha, -beta, NAP-1 und IL-8. Diese Komponente kann auch als eine Komponente B eingesetzt werden.

Eine Reportergruppe ist ein Atom, Molekül oder eine Ver-
25 bindung, welche in Verbindung mit einem hierauf abgestellten Assay den Nachweis der Reportergruppe und der somit mit der Reportergruppe verbundenen Verbindung oder Substanz ermöglicht. Beispiele für Reportergruppen und hiermit assoziierte Detektionsmethoden sind: ³²P-Labeling und
30 Intensitätsmessung mittels Phosphorimager. Viele weitere Beispiele sind dem Durchschnittsfachmann bekannt und bedürfen nicht der detaillierten Aufzählung.

Eine an Mrp4 bindende Substanz kann eine Substanz sein, welche ein Mrp4 Protein oder eine Mrp4 RNA bindet.

Resistenz bezeichnet die Widerstandsfähigkeit von malignen
5 Zellen gegenüber Chemotherapeutika. Eine Zelle ist im Falle einer erwerbbaaren Resistenz resistent, wenn die Zeit bis zum Zelltod verlängert ist gegenüber einer Referenzzelle gleichen Zelltyps bzw. gleicher Zellline und gleicher Dosierung oder wenn die Proliferationsrate der
10 resistenten Zelle unter gleichen Bedingungen erhöht ist gegenüber jener der Referenzzelle. Eine Zelle ist im Falle einer initialen Resistenz resistent, wenn die Zeit bis zum Zelltod verlängert oder die Proliferationsrate erhöht ist gegenüber einer nichtresistenten Referenzzelle ver-
15 schiedenen Zelltyps und gleicher Dosierung.

Im Rahmen der vorstehenden Definition gegenüber dem engen Wortsinn erweiterte Begriffsbestimmungen umfassen auch die bestimmten Begriffe im engen Wortsinn.

20

Beispiele.

Im Folgenden wird die Erfindung anhand von lediglich
25 bevorzugte Ausführungsformen darstellenden Beispielen und Figuren näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1: Chipanalyse zur differenziellen Expression von
30 Mrp4 in Protatatumorgewebe aus Patienten,

Fig. 2: Cancer Profiling Array zur differentiellen Expression von Mrp4 in Prostata- und Ovarialtumorgewebe aus Patienten,

5 Fig. 3: Mrp4 TaqMan in Prostata-Tumor- und Prostata-Normalgewebe aus gleichen Patienten,

Fig. 4: Mrp4 TaqMan in verschiedenen humanen Tumorzelllinien,

10

Fig. 5: verschiedene Hammerhead Ribozyme, welche Mrp4 mRNA schneiden,

Fig. 6: Immunisierungspeptide,

15

Fig. 7: eine Mrp4 codierende Nukleinsäure (Seq.-ID 9), und

Fig. 8: ein Mrp4 Protein bzw. Peptid (Seq.-ID 10), wobei die markierte Teilsequenz (Seq.-ID 11) von
20 selbstständiger Bedeutung ist.

Beispiel 1:

25 Es wurden electronic Northern gemäß der Literaturstelle DE 198 11 194 A1 angefertigt, wobei die in den Sequenzprotokollen angegebene assemblierte Sequenz aus ESTs bzw. Contigs eingesetzt wurde (ok_582). Eine Überexpression in Tumorgewebe mit einer Signifikanz von $> 0,90$ wurde für
30 Prostata- und Blasengewebe gefunden.

Beispiel 2: Überexpression in Prostata-Tumor

Gepaartes Prostatatumor- und Normalgewebe wurde im Wege der Lasermikrodissektion von 54 Patienten entnommen. Die daraus präparierte RNA wurde amplifiziert, mit Digoxigenin
5 gelabelt und auf einen DNA Chip mit Hilfe der Affymetrix Technologie hybridisiert. Die Ergebnisse der Analyse des Chips sind in der Figur 1 dargestellt. Man erkennt, daß in 55% der Prostatatumoren (28 aus 54 Patienten) die Expression um zumindest den Faktor 2 erhöht ist.

10

Beispiel 3: Überexpression in Prostata- und Ovar tumor.

Figur 2 zeigt Ergebnisse der Expression von Mrp4 auf
15 Prostata- und Blasentumoren und den dazugehörenden Normalgeweben, erhalten wie oben angegeben, aus einem Cancer Profiling Array. Hierfür wurde die Mrp4 Sequenz mit 32P-dCTP gelabelt mittels random hexamer priming und an das Cancer Profiling Array hybridisiert. Dieses enthält
20 225 cDNA Paare, wobei jedes Paar Tumor- und Normalgewebe von einem Patienten repräsentiert. Man erkennt, daß in mehreren Prostata- und Ovar tumoren Mrp4 überexprimiert wird.

25

Beispiel 4: Überexpression in Prostatatumor.

Mrp4-spezifische Oligonukleotidprimer wurden generiert und für eine quantitative PCR (TaqMan) verwendet, wobei die
30 erster Strang cDNA aus verschiedenen Geweben und Zelllinien, wie in der Figur 3 angegeben, stammte. Man erkennt zunächst, daß eine signifikante Überexpression von Mrp4 (4-9-fach) in 5 von 15 Prostatgewebepaaren erfolgt.

In anderen Normalgeweben der Figur 3 erfolgt keine Expression. Gleiches gilt für die untersuchten Zelllinien, mit Ausnahme der Androgen-sensitiven Tumorzelllinie LNCaP.

5 Eine detaillierte Darstellung der Untersuchungen an Zelllinien ist in der Figur 4 gegeben, wobei zunächst die starke Expression in der Prostata-Tumorzelllinie LNCaP deutlicher hervortritt. Es ist aber auch erkennbar, daß eine Expression in nicht Androgen-sensitiven Zelllinien,
10 wie beispielsweise PC-3 und DU-145 vergleichsweise niedrig ist.

Beispiel 5: Nachweis von Mrp4 mittels Antikörpern

15 In diesem Beispiel wird die Markierung eines Tumors bzw. seiner Metastasen durch einen anti-Mrp4-Antikörper in vivo (Mausmodell) beschrieben. Ein anti-Mrp4-Antikörper wird mit einem Markermolekül (z. B. Radioisotop) markiert. In NMRI-Nacktmäuse werden 3×10^6 Mrp4-transfizierte humane
20 Zellen oder Tumorzellen mit hoher endogener Mrp4 Expression, beispielsweise LNCaP Zellen, transplantiert. Nach einem Zeitraum, der ausreicht, um Metastasen an einer sekundären Stelle des Körpers zu entwickeln, beispielsweise 30 Tage nach der Transplantation, wird den Mäusen
25 markierter Antikörper infiziert. Die Kontrolltiere werden mit einem nicht relevanten Antikörper behandelt. Wenige Stunden nach der Antikörperapplikation werden die Tiere getötet und aus allen Organen Gewebeschnitte angefertigt. Diese Schnitte werden auf die Gegenwart von markiertem
30 anti-Mrp4 Antikörper untersucht.

Bei den anti-Mrp4 Antikörpern handelt es sich um polyklonale Antikörper gegen humanes Mrp4 Protein, konjugiert mit

einem Trägerprotein, in Kaninchen gezogen und mit den spezifischen immobilisierten Peptiden affinitätsgereinigt.

Beispiele für Immunisierungspeptide sind in Figur 6
5 (Seq.-ID 1 bis 4) angegeben. Als Immunogene können ebenso mit cDNA von Mrp4, oder Teilsequenzen hiervon transfizierte Zellen, wie beispielsweise COS-Zellen oder NIH3T3-Zellen, eingesetzt werden. Ebenso sind Tumorzellen, die endogen Mrp4 exprimieren, geeignet. Weiterhin kann
10 auch rekombinant hergestelltes Mrp4 bzw. Teilsequenzen hieraus, die in Producerzellen, wie E. coli oder Insektenzellen exprimiert werden, zur Immunisierung eingesetzt werden.

15

Beispiel 6: Immunhistochemischer Nachweis von Tumorzellen.

Primäre Tumoren werden aus den Patienten mit Prostata-, Blasen- und/oder Ovarialtumoren isoliert und als Paraffin
20 bzw. Gefrierschnitte präpariert. Diese Schnitte werden mit einem anti-Mrp4-Antikörper auf die Überexpression von Mrp4 in Tumorzellen untersucht. Die immunhistologische Untersuchung mit dem Mrp4-Antikörper zeigt höhere Expression von Mrp4 in den Tumorzellen im Vergleich zu umliegenden
25 Normalgewebe. Die Untersuchung erfolgt im Einzelnen durch Inkubation mit dem anti-Mrp4 Antikörper als primärem Antikörper, einem biotinyliertem sekundären anti-Kaninchen Antikörper und einer Streptavidin-gekoppelten Meerrettichperoxidase. Die Färbung erfolgt mit DAB als chromo-
30 genen Substrat (braune Färbung). Die Gegenfärbung erfolgt mit Hemalaun-Lösung (blaue Färbung). Es sind maligne und nichtmaligne Zellen unterscheidbar, wobei die malignen Zellen eine starke Färbung, i.e. hohen Mrp4 Gehalt,

aufweisen, während die nichtmalignen Zellen nur moderat gefärbt sind.

5 Beispiel 7: RNA-Inhibitoren

In der Figur 5 (Seq.-ID 5 und 6) sind verschiedene Hammerhead Ribozyme dargestellt, die Mrp4 an den dargestellten Stellen schneiden und so die Aktivität eventueller Trans-
10 lationsprodukte inhibieren oder zumindest reduzieren. Geeignete antisense RNA Sequenzen sind beispielsweise 5'-UCACCUCCUGGUACACGGGCAG-3' (Seq.-ID 7) und 5'-GCAGAUUGUUCGCGUCCUGCAGC-3' (Seq.-ID 8). Es ist auch
15 möglich durch Konstruktion von Primern, mittels welcher RNAi Sonden generiert werden, Mrp4 zu inhibieren im Wege des Gen Silencing (RNA Wechselwirkung).

20

25

30

Patentansprüche:

1. Verwendung einer für Mrp4 codierenden Nukleinsäure
5 und/oder eines Mrp4 Peptids oder Proteins zur Detektion von Prostata- und/oder Blasen- und/oder Ovartumoren, oder zur Detektion eines Risikos der Erkrankung an Prostata- und/oder Blasen- und/oder Ovartumoren, insbesondere von Tumoren mit einer erhöhten Resistenz, wobei
10 eine Prostata- oder Blasen- oder Ovar-Gewebeprobe auf Übertranskription von Mrp4 RNA oder auf Überexpression eines Mrp4 Proteins untersucht wird.
- 15 2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei eine an für Mrp4 codierende Nukleinsäure oder eine an Mrp4 Protein oder Peptid bindende Detektorsubstanz, vorzugsweise enthaltend eine Reportergruppe, verwendet wird, wobei Bindung besagter Nukleinsäure und/oder besagten Proteins oder
20 Peptids an die Detektorsubstanz halbquantitativ oder quantitativ detektiert wird.
3. Verwendung einer Mrp4 RNA oder eines Mrp4 Proteins oder
25 Peptids zum Screenen nach daran bindenden Substanzen, insbesondere prospektiven Wirkstoffen zur Inhibierung von besagter RNA oder besagtem Protein oder Peptid oder prospektiven Detektorsubstanzen, wobei eine prospektive Substanz oder eine Mischung solcher prospektiver Sub-
30 stanzen mit besagter RNA oder besagtem Protein oder Peptid kontaktiert wird, wobei mit einem Bindungsassay Bindungsereignisse festgestellt werden, und wobei eine

bindende prospektive Substanz, ggf. nach Dekonvolution, selektiert wird.

- 5 4. Verwendung einer Mrp4 inhibierenden oder daran bindenden Substanz zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Prostata- und/oder Blasen- und/oder Ovarialtumoren, insbesondere zur Behandlung resistenter Tumoren.
- 10
5. Verwendung nach Anspruch 4, wobei die Substanz ein Antikörper ist, welcher durch Immunisierung eines nicht-menschlichen Säugetiers mit einem Mrp4 Peptid oder Protein, oder einer hierfür codierenden cDNA, erhältlich ist, oder ein Phage-Display Antikörper ist.
- 15
6. Verwendung nach Anspruch 4, wobei die Substanz eine Mimikriverbindung eines Antikörpers gegen ein Mrp4 Peptid oder Protein ist.
- 20
7. Verwendung nach Anspruch 4, wobei die Substanz, ein Aptamer, eine antisense RNA, oder ein Ribozym ist.
- 25
8. Verwendung nach einem der Ansprüche 4 bis 7, wobei die Substanz zusätzlich eine zytotoxische und/oder immunstimulierende Komponente trägt.
- 30

9. Verwendung nach einem der Ansprüche 4 bis 8, wobei die pharmazeutische Zusammensetzung zur lokalen Applikation in Tumorzellen enthaltendem Gewebe hergerichtet ist.

5

10. Verfahren zur Diagnose einer Prostata- und/oder Blasen- und/oder Ovariumtumorerkrankung, insbesondere zur Diagnose resistenter Tumoren, wobei eine Detektor-substanz in einer Ausführungsform mit einer Reportergruppe in zu untersuchendes Gewebe appliziert wird, wobei das zu untersuchende Gewebe dann einer Detektionsverfahrenstufe unterworfen wird, welche sensitiv für die Reportergruppe ist, und wobei im Fall der Detektion eines definierten Mindestwertes der Reportergruppe im Gewebe das Gewebe als, ggf. resistente, Tumorzellen enthaltend qualifiziert wird.

15

11. Verfahren zur Behandlung einer Prostata- und/oder Blasen- und/oder Ovariumtumorerkrankung, insbesondere resistenter Tumoren, wobei eine pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 4 bis 9 in einer physiologisch wirksamen Dosis einem Patienten dargereicht wird, wobei optional gleichzeitig, davor, oder danach ein hiervon verschiedener Antikrebs-Wirkstoff in gleicher oder verschiedener Darreichungsform dargereicht wird.

20

25

12. Pharmazeutische Zusammensetzung enthaltend zumindest zwei Komponenten A und B, wobei Komponente A eine Substanz nach einem der Ansprüche 4 bis 8 ist, wobei die Komponente B ein Antikrebs-Wirkstoff ist, wobei die

30

Komponenten A und B alternativ hergerichtet sein können i) als räumlich separate Komponenten eines Mehrkomponentenpräparates, bestimmt zur gleichzeitigen oder aufeinanderfolgenden Darreichung und galenisch hergerichtet als gleiche oder verschiedene Darreichungsformen, oder ii) als Kombinationspräparat in Form einer räumlich verbundenen und einheitlichen Darreichungsform.

10

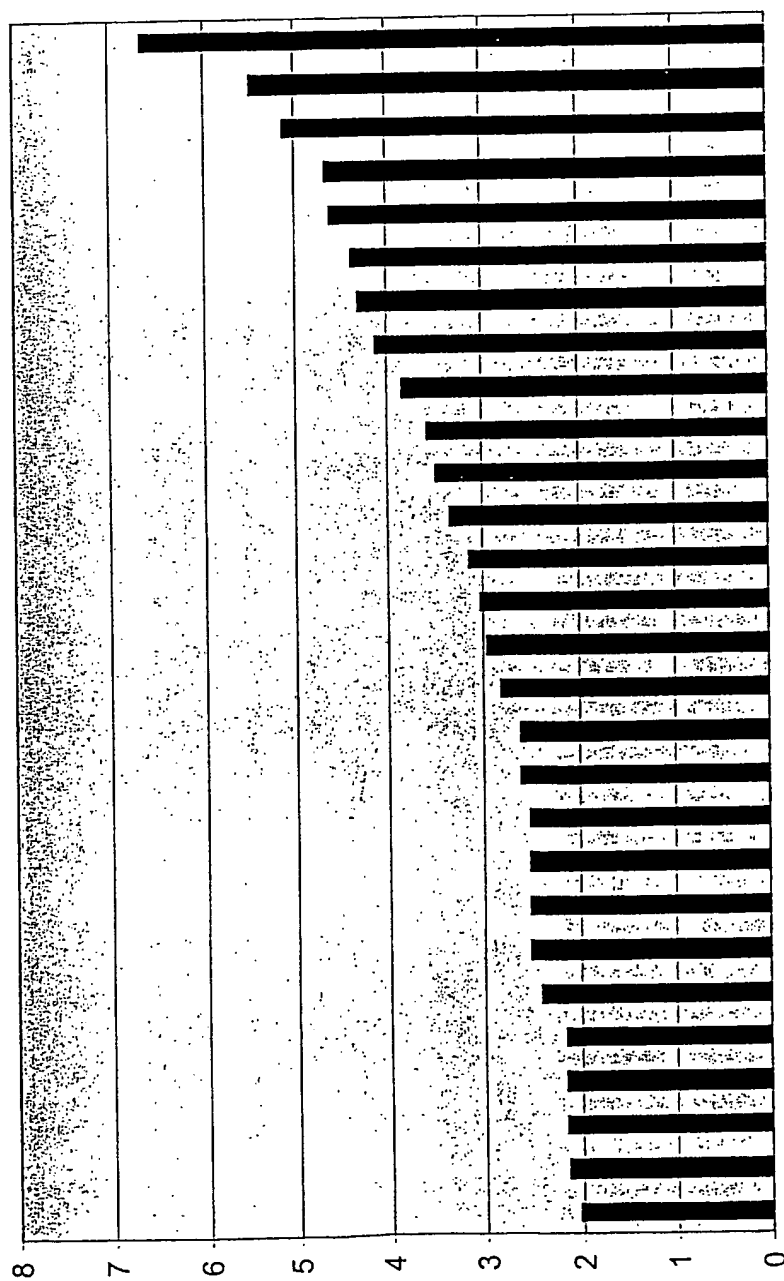
13. Ein Mrp4 Protein oder Peptid enthaltend eine Teilsequenz von zumindest 4 Aminosäuren aus Seq.-ID 10, insbesondere aus Seq.-ID 11, oder enthaltend Seq.-ID 10, insbesondere Seq.-ID 11, oder bestehend aus einer solchen Sequenz, nicht jedoch ein Protein oder Peptid gemäß oder codiert durch Genbank AccNo NM_005845, AY_081219 und XM_036453 und nicht Seq.-ID 1 gemäß WO0058471.

20

14. Eine für ein Protein oder Peptid nach Anspruch 13 codierende Mrp4 Nukleinsäure, insbesondere enthaltend eine Teilsequenz von zumindest 12 Nukleotiden aus Seq.-ID 9.

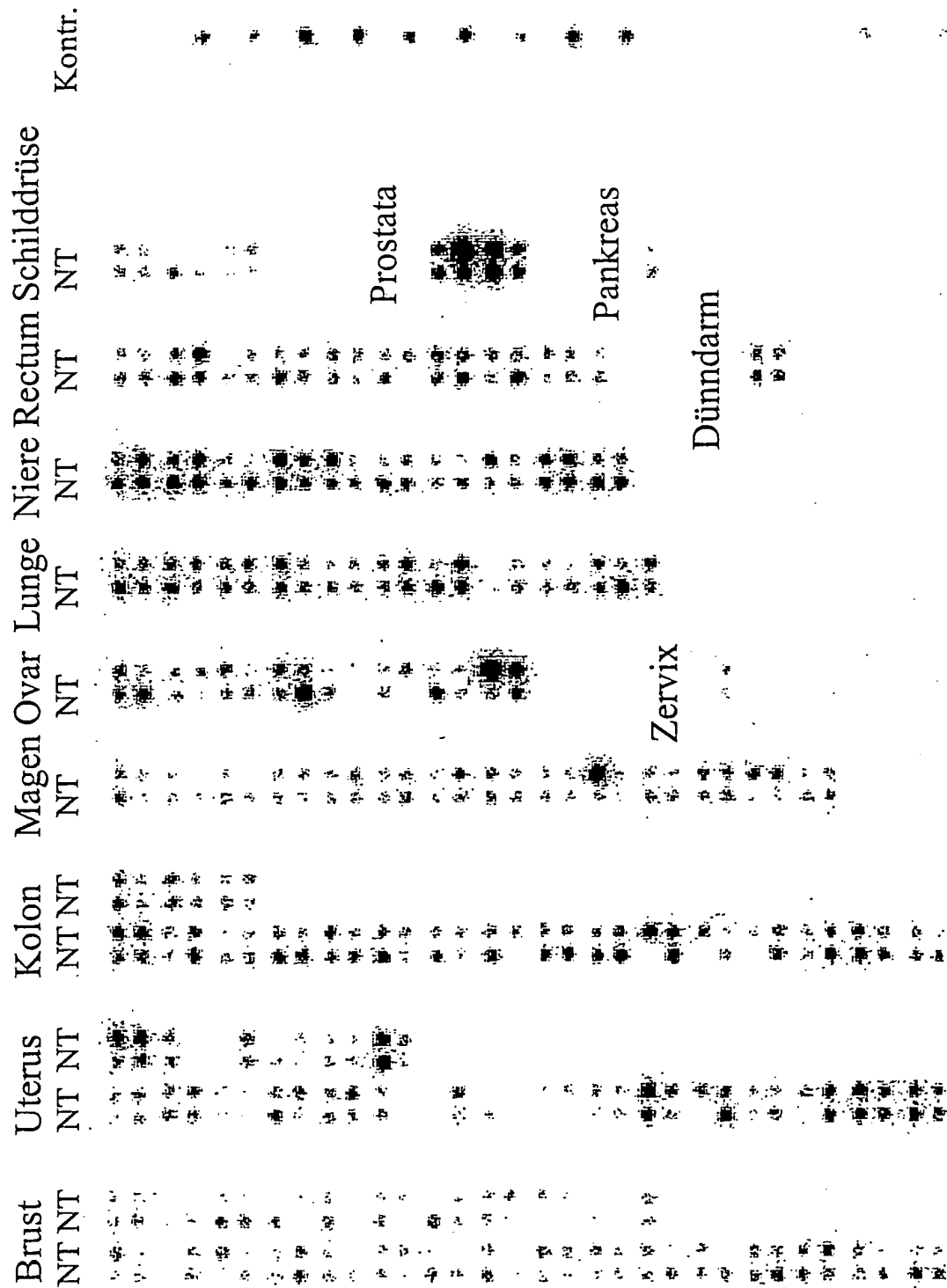
25

30

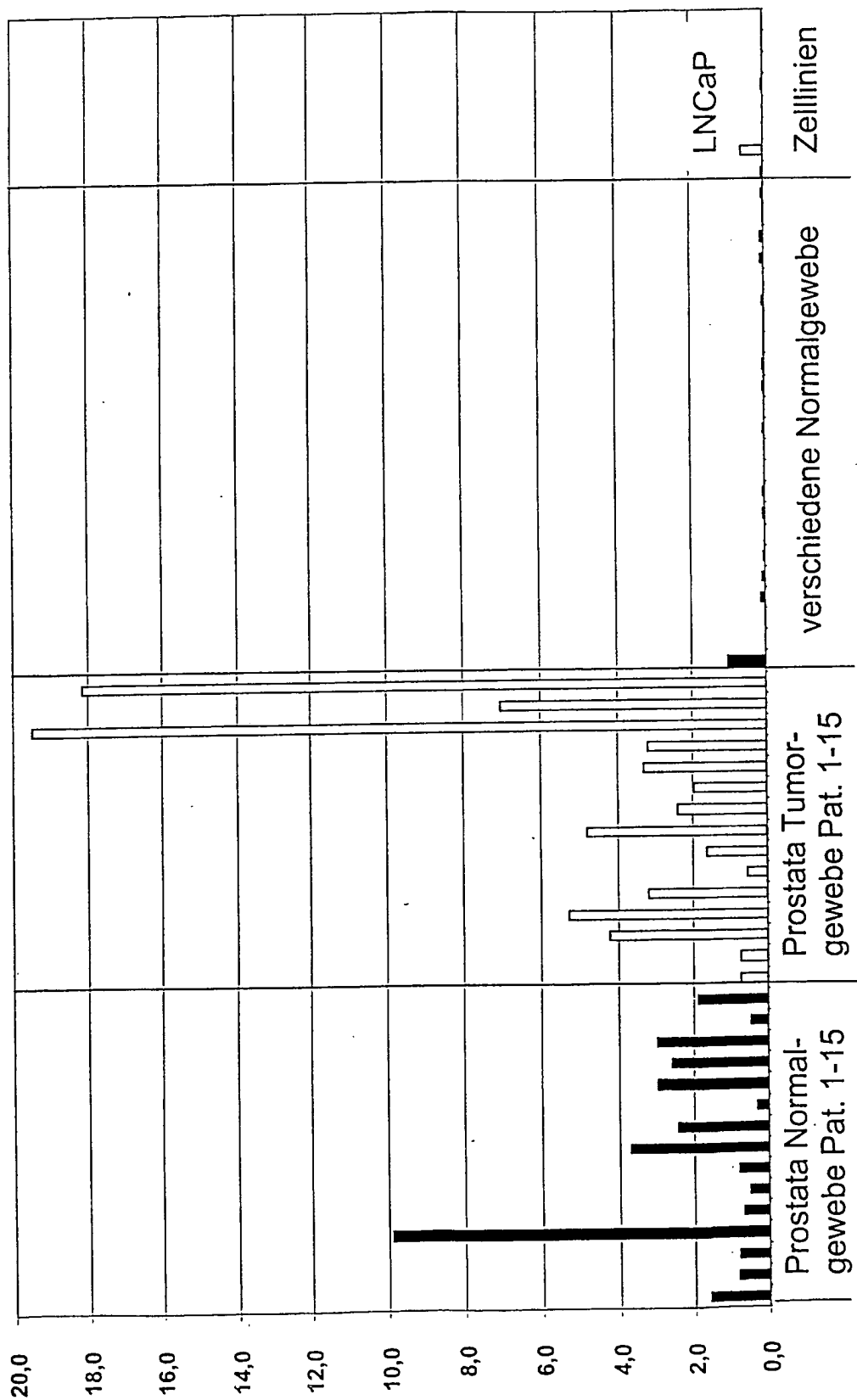


Patienten

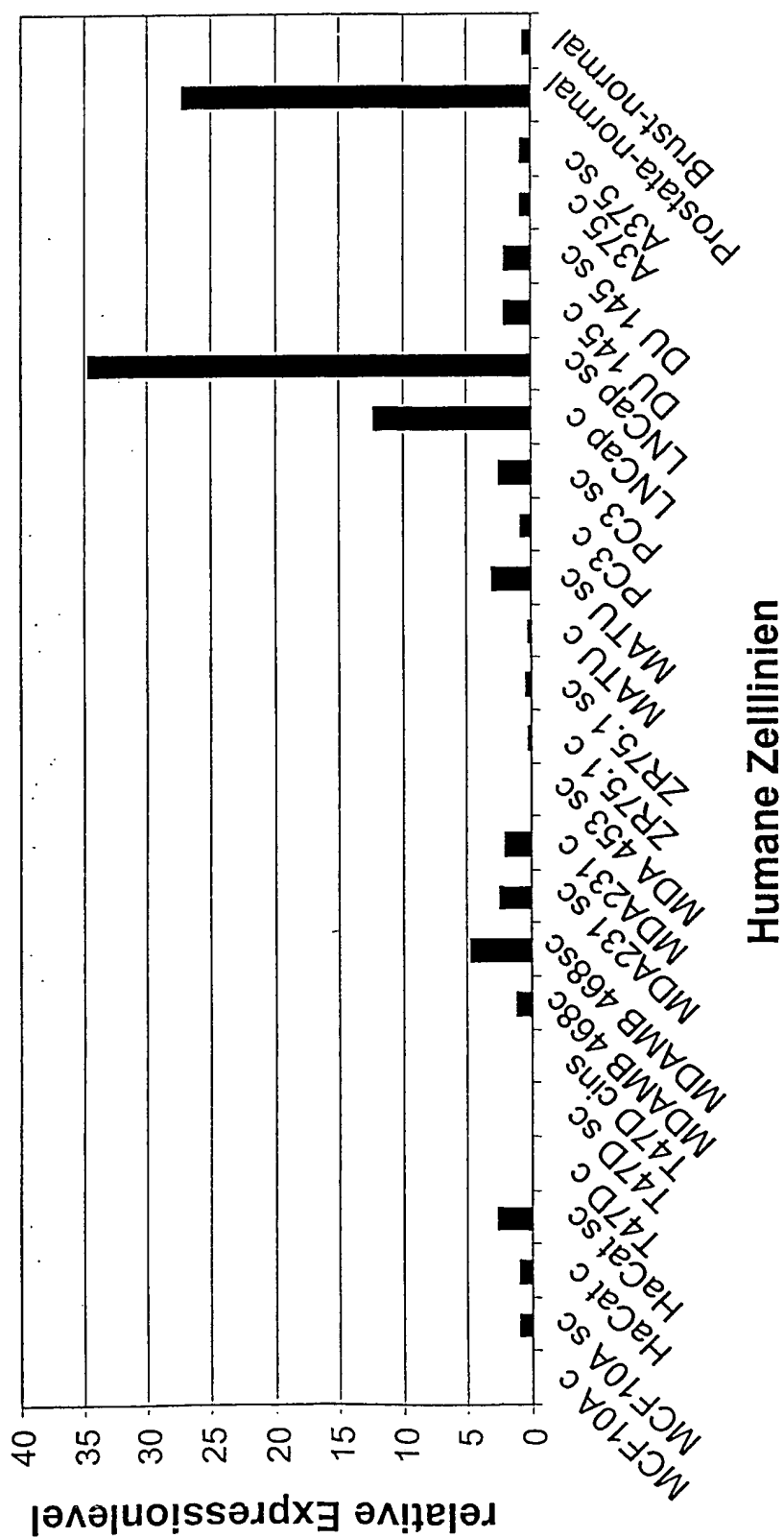
Figur 1



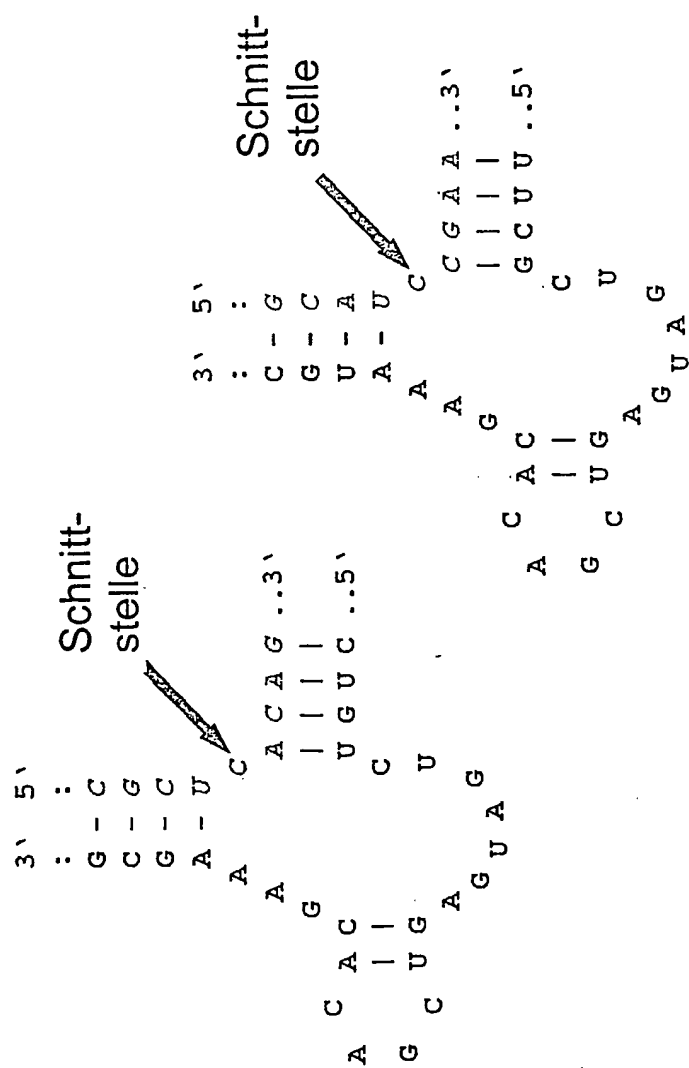
FIGUR 2



FIGUR 3



Figur 4



Figur 5

Ak-c: CKIGHKRRLEEDDMYS

Ak-d: CRQLPSDGKKMV

Ak-e: CLLKKDNEESEQPPVP

Ak-f: SGRLKEYDEPYVLLQC


Figur 6

Figur 7

GAAACAGCAAAACAGG IATACTTCAAAAGAAATTATCCACATATTGGTCA
NACTGACCACATGGTTACAAACACTTCCAATGGACAGCCCTCGACCTTAA
CTATTTTCGAGACAGCACTGTGAATCCAACCAAAATGTCAAGTCCGTTCC
GAAGGCATTTGCCACTAGTTTTTGGACTATGTAAACCACATTGTACTTTT
TTTTACTTTGGCAACAAATATTTATACATACAAGATGCTAGTTCATTTGA
ATATTTCTCCCACTTATCCAAGGATCTCCAGCTCTAACAAAATGGTTTA
TTTTTATTTAAATGTCAATAGTTGTTTTTTAAATCCAAATCAGAGGTGC
AGGCCACCAGTTAAATGCCGTCTATCAGGTTTTGTGCCTTAAGAGACTAC
AGAGTCAAAGCTCATTTTTTAAAGGAGTAGGACAGAGTTGTACAGNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNCCCCAAAATTACATGTTAATTTCCATTTATAT
CAGGGATTCTATTTACTTGAAGACTGTGAAGTTGCCATTTTGTCTCATTG
TTTTCTTTGACATAACTAGGATCCATTATTTCCCCTGAAGGCTTCTTGTT
AGAAAATAGTACAGTTACAACCAATAGGAACAACAAAAAGAAAAAGTTTG
TGACATTGTAGTAGGGAGTGTGTACCCCTTACTCCCCATCAAAAAAAAAA
ATGGATACATGGTTAAAGGATAGAAGGGCAATATTTTATCATATGTTCTA
AAAGAGAAGGAAGAGAAAATACTACTTTCTCAAATGGAAGCCCTTAAAG
GTGCTTTGATACTGAAGGACACAAATGTGACCGTCCATCCTCCTTTAGAG
TTGCATGACTTGGACACGGTAAGTGTGTCAGTTTTAGACTCAGCATTGTG
ACACTTCCAAGAAGGCCAAACCTCTAACCGACATTCCTGAAATACGTGG
CATTATTCTTTTTTGGATTTCTCATTTATGGAAGGCTAACCCTCTGTTGA
CCGTAAGCCTTTTGGTTTGGGCTGTATTGAAATCCTTTCTAAATTGCATG
AATAGGCTCTGCTAACGTGATGAGACAACTGAAAATTATTGCAAGCATT
GACTATAATTATGCAGTACGTTCTCAGGATGCATCCAGGGGTTTCAATTTT
ATGAGCCTGTCCAGGTTAGTTTACTCCTGACCACTAATAGCATTGTCATT
TGGGCTTTCTGTTGAATGAATCAACAAACCACAATACTTCTGAGGACCTT
TTGTACTTTATTTGAACTATGAGTCTTTAATTTTTCTGATGATGGTGGC
TGTAATATGTTGAGTTCAGTTTACTAAAGGTTTTACTATTATGGTTTGAA
GTGGAGTCTCATGACCTCTCAGAATAAGGTGTCACCTCCCTGAAATTGCA
TATATGTATATAGACATGCACACGTGTGCATTTGTTTGTATACATATATT
TGTCTTTCGTATAGCAAGTTTTTTTGCTCATCAGCAGAGAGCAACAGATGT
TTTATTGAGTGAAGCCTTAAAAAGCACACACCACACACAGCTAACTGCCA
AAATACATTGACCGTAGTAGCTGTTCAACTCCTAGTACTTAGAAATACAC
GTATGGTTAATGTTTCAGTCCAACAAACCACACACAGTAAATGTTTATTAA
TAGTCATGGTTCGTATTTTAGGTGACTGAAATTGCAACAGTGATCATAAT
GAGGTTTGTTAAACGATAGCTATATTCAAATGTCTATATGTTTATTTG
GACTTTTGAGGTTAAAGACAGTCATATAAACGTCCTGTTTCTGTTTTAAT
GTTATCATAGAATTTTTTAATGAACTAAATTCAATTGAAATAAATGATA
GTTTTCATCTCCAAAAAAA

Figur 8

MLPVYQEVKPNPLQDANICSRVFFWWLNPLFKIGHKRRLEEDDMYSVLPEDRSQHLGEELQG
FWDKEVLRAENDAQKPSLTRAIIKCYWKSYLEVLGIFTLIEESAKVIQPIFLGKIINYFENYD
PMDSVALNTAYAYATVLTFTLILAILHHLYFYHVQCAGMRLRVAMCHMIYRKALRLSNMAM
GKTTTGQIVNLLSNDVNKFDQVTVFLHFLWAGPLQAI AVTALLWMEIGISCLAGMAVLIILL
PLQSCFGKLFSSLRSKTATFTDARIRTMNEVITGIRIIKMYAWEKSFSNLI TNLRKKEISKI
LRSSCLRGMNLAFFSASKII VFVTFTTYVLLGSVITASRVFVAVTLYGAVRLTVTLFFPSA
IERVSEAIVSIRRIQTFLLLDEISQRNRQLPSDGKKMVHVQDFTAFWDKASETPTLQGLSFT
VRPGELLAVVGPVGAGKSSLLSAVLGELAPSHGLVSVHGRIAYVSQQPWVFSGTLRSNILFG
KKYEKERYEKVIKACALKKDLQLLEDGDLTVIGDRGTTLSGGQKARVNLARAVYQDADIYLL
DDPLSAVDAEVSRLHFELCICQILHEKITILVTHQLQYLKAASQILILKDGKMOVQKGTYTEF
LKSGIDFGSLLKKDNEESEQPPVPGTPTLRNRTFSESSVWSQQSSRPSLKDGALESQDTENV
PVTLSEENRSEGKVG FQAYKNYFRAGAHWIVFIFLILLNTAAQVAYVLQDWWLSYWANKQSM
LNVTVNGGGNVTEKLDLWYLG IYSGLT VATVLFGIARSLLVFYVLVNSSQTLHNKMFESIL
KAPVLFFDRNP IGRILNRFSKDIGHLDDLLPLTFLDFIQTL LQVVG VVS VAVAVI PWIAIPL
VPLGII FIFLRRYFLET SRDVKRLESTTRSPVF SHLSSSLQGLWTIRAYKAEERCQELFDAH
QDLHSEAWFLFLTTSRWF AVRLDAICAMFV IIVAFGSLILAKTLDAGQVGLALS YALTLMGM
FQWCVRQSAEVENMMISVERVIEYTDLEKEAPWEYQKRPPPAWPHEGVIIFDNVNFMYSPGG
PLVLKHLTALIKSQEKVGIVGRTGAGKSSLISALFRLSEPEGKIWIDKILTTEIGLHDLRKK
MSIIPQEPVLFTGTMRKNLDPFKEHTDEELWNALQEVQLKETIEDLP GKMDTELAESGSNFS
VGQRQLVCLARA I LRKNQILIIDEATANVDPRTDELIQKKIREKFAHCTVLTIAHRLNTIID
SDKIMVLDSGRLKEYDEPYVLLQNKESLFYKMVQQLGKAEAAALTETAKQVYFKRNYPHIGH
TDHMTNTSNGQPSTLTIFETAL



(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
26. Februar 2004 (26.02.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/016810 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **C12Q 1/68**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2003/002159

(22) Internationales Anmeldedatum:
23. Juni 2003 (23.06.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 34 901.0 26. Juli 2002 (26.07.2002) DE

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: PILARSKY, Christian [DE/DE]; Oudenarderstr. 16, 13347 Berlin (DE). HINZMANN, Bernd [DE/DE]; Oudenarderstr. 16, 13347 Berlin (DE). SPECHT, Thomas [DE/DE]; Oudenarderstr. 16, 13347 Berlin (DE). ROSENTHAL, André [DE/DE]; Oudenarderstr. 16, 13347 Berlin (DE). LICHTNER, Rosemarie [DE/DE]; Oudenarderstr. 16, 13347 Berlin (DE). DAHL, Edgar [DE/DE]; Oudenarderstr. 16, 13347 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SCHWIDETZKY, Uta [DE/DE]; Oudenarder Strasse 16, 13347 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht
— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: 11. November 2004

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: USE OF AN MRP4 BINDING SUBSTANCES FOR THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF CANCER

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON AN MRP4 BINDENDEN SUBSTANZEN ZUR DIAGNOSE UND BEHANDLUNG VON KREBSERKRANKUNGEN

(57) Abstract: The invention relates to the uses of Mrp4 for the diagnosis and treatment of prostate and/or bladder and/or ovarian tumours, and for screening for substances for such purposes.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Verwendungen von Mrp4 zur Diagnose und Behandlung von Prostata- und/oder Blasen- und/oder Ovarialtumoren, sowie zum Screenen nach Substanzen für solche Zwecke.

WO 2004/016810 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 03/02159

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, Sequence Search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE GENESEQ [Online] EBI; 19 July 2001 (2001-07-19), XU ET AL.: "Human prostate-specific 1st amino acid sequence for P510S" XP002270639 Database accession no. AAM01179 abstract	1-3,10, 13
X	-& WO 01/51633 A 19 July 2001 (2001-07-19) Siehe S. 62-67,81-89,91,129,194-205	1-5, 7-10,12, 13
X	DATABASE GENESEQ [Online] EBI; "Human prostate-specific 1st full length cDNA sequence for P510S" XP002270640 Database accession no. AAH93828 abstract -/--	1-3,10, 14

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

3 March 2004

Date of mailing of the international search report

10. 09. 2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hagenmaier, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 03/02159

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	-& WO 01/51633 A 19 July 2001 (2001-07-19) Siehe S. 62-67,81-89,91,129,194-205 -----	1-5, 7-10,12, 14
X	DATABASE GENESEQ [Online] Prostate cancer-associated protein #21 18 April 2002 (2002-04-18), GISH ET AL.: "Detecting a prostate cancer-associated transcript in a cell in a patient, useful for diagnosing prostate cancer or screening modulators of prostate cancer" XP002270644 Database accession no. ABG61820 abstract	1-3,10, 13
X	-& WO 02/30268 A 18 April 2002 (2002-04-18) Siehe S. 54-70,86,168 (Tab.7 "AF071202") -----	1-5, 7-10,12, 13
X	DATABASE GENESEQ [Online] EBI; Human prostate cDNA encoded protein #32 4 October 2001 (2001-10-04), XU ET AL.: XP002270642 Database accession no. AAU69824 abstract	1-3,10, 13
X	DATABASE GENESEQ [Online] EBI; Human prostate cDNA sequence #438 4 October 2001 (2001-10-04), XP002270641 Database accession no. AAS63921 abstract	1-3,10, 14
X	DATABASE GENESEQ [Online] EBI; Human prostate expression marker cDNA 25378 23 August 2001 (2001-08-23), SCHLEGEL ET AL.: "Novel isolated nucleic acid molecule associated with cancerous state of prostate cells and correlating with presence of prostate cancer, useful for detecting presence of prostate cancer, stage of prostate cancer" XP002270643 Database accession no. ABV25387 abstract	1-3,10, 14
X	EP 1 217 066 A (UNIV GENT) 26 June 2002 (2002-06-26) Siehe S. 277 the whole document -----	3,13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 03/02159

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	BORST P ET AL: "A family of drug transporters: the multidrug resistance-associated proteins." JOURNAL OF THE NATIONAL CANCER INSTITUTE. UNITED STATES 16 AUG 2000, vol. 92, no. 16, 16 August 2000 (2000-08-16), pages 1295-1302, XP009013640 ISSN: 0027-8874 -----	
P,X	WO 03/009814 A (GANNAVARAPU MANJULA ;GORBATCHEVA BELLA (US); GLATT KAREN (US); AND) 6 February 2003 (2003-02-06) Siehe Seq. ID 1 und Seq.ID 2. the whole document -----	1-5, 7-10, 12-14
P,X	WO 02/059373 A (IRM LLC ;HAMPTON GARRET MALCOLM (US); WELSH JOHN BARNARD (US)) 1 August 2002 (2002-08-01) Siehe Tab. 4, S. 43 the whole document -----	1-5, 7-10, 12-14

Continuation of Box I.1

Claim 10 (in part) and claim 11 (in full)

Claim 11: PCT Rule 39.1(iv) – method for treatment of the human or animal body by therapy.

The search in respect of the method claimed in claim 10 was restricted to methods not incorporating steps carried out on the human or animal body (PCT Rule 39.1(iv)).

Continuation of Box I.2

Claims 4, 8, 9 and 12 (all in part) and claim 6 (in full)

The current claims 4, 6, 8 and 9 relate to methods for producing a pharmaceutical composition for treating prostate tumour diseases, but the technical features which define the substances used in these methods are unclear. Claims 4, 6, 8 and 9 thus lack the requisite clarity (PCT Article 6) to such an extent that it was not possible to carry out a meaningful search covering the full range of subject matter for which protection is sought. The search was therefore directed to the parts of claims 4, 8 and 9 which relate to the substances specified in claims 5 and 7. Product claim 12 relates to a composition containing two components A and B, where component A is a substance according to one of claims 4 to 8. The search was therefore restricted to the parts of claim 12 which relate to the substances specified in claims 5 and 7.

The applicant is advised that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subjects that have not been searched. This also applies to cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II. However, after entry into the regional phase before the EPO an additional search may be carried out in the course of the examination (cf. EPO Guidelines, Part C, VI, 8.5) if the deficiencies that led to the declaration under PCT Article 17(2) have been corrected.

Continuation of Box II

The International Searching Authority has determined that this international application contains multiple (groups of) inventions, as follows:

1. Claims 1, 2, 4-9 and 11 (all in part)

Use of a nucleic acid coding for Mrp4 and/or of an Mrp4 peptide or protein to detect prostate tumours or the risk of such a disease, involving the testing of a prostate tissue sample for overtranscription of Mrp4 RNA or overexpression of an Mrp4 protein; use of an Mrp4-inhibiting or Mrp4-binding substance in the production of a pharmaceutical composition for treating prostate tumours.

2. Claims 1, 2, 4-9 and 11 (all in part)

Use of a nucleic acid coding for Mrp4 and/or of an Mrp4 peptide or protein to detect bladder tumours or the risk of such a disease, involving the testing of a bladder tissue sample for overtranscription of Mrp4 RNA or overexpression of an Mrp4 protein; use of an Mrp4-inhibiting or Mrp4-binding substance in the production of a pharmaceutical composition for treating bladder tumours.

3. Claims 1, 2, 4-9 and 11 (all in part)

Use of a nucleic acid coding for Mrp4 and/or of an Mrp4 peptide or protein to detect ovarian tumours or the risk of such a disease, involving the testing of a ovarian tissue sample for overtranscription of Mrp4 RNA or overexpression of an Mrp4 protein; use of an Mrp4-inhibiting or Mrp4-binding substance in the production of a pharmaceutical composition for treating ovarian tumours.

4. Claim 3 (in full)

Use of an Mrp4 RNA or an Mrp4 protein or peptide to screen for substances that bind thereto.

5. Claim 10 (in full)

Method for diagnosing a prostate and/or bladder and/or ovarian tumour disease, in particular for diagnosing resistant tumours, wherein a detector substance is applied to the tissue being examined.

6. Claim 12 (in full)

Pharmaceutical composition containing at least two components A and B, where component A is an Mrp4-inhibiting or Mrp4-binding substance and component B being an anti-cancer agent.

7. Claims 13 and 14 (in full)

An Mrp4 protein or peptide containing a partial sequence of at least 4 amino acids from SEQ ID No. 10; an Mrp4 nucleic acid coding for said protein or peptide, in particular containing a partial sequence of at least 12 nucleotides from SEQ ID No. 9.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 03/02159

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0151633	A	19-07-2001	AU 3447401 A	24-07-2001
			AU 6158700 A	30-01-2001
			BR 0107643 A	10-06-2003
			CA 2378846 A1	18-01-2001
			CA 2397741 A1	19-07-2001
			CN 1436234 T	13-08-2003
			CZ 20022756 A3	12-02-2003
			WO 0104143 A2	18-01-2001
			EP 1194571 A1	10-04-2002
			EP 1261708 A2	04-12-2002
			HU 0203968 A2	28-03-2003
			JP 2003504080 T	04-02-2003
			JP 2003528591 T	30-09-2003
			NO 20023402 A	29-08-2002
			PL 356908 A1	12-07-2004
			WO 0151633 A2	19-07-2001
			US 2003157089 A1	21-08-2003
			US 2003185830 A1	02-10-2003
			US 6620922 B1	16-09-2003
			US 6759515 B1	06-07-2004
			US 6630305 B1	07-10-2003
			US 2002022248 A1	21-02-2002
			US 2002051977 A1	02-05-2002
			US 2002193296 A1	19-12-2002
			ZA 200206400 A	21-01-2004
WO 0230268	A	18-04-2002	US 2002068036 A1	06-06-2002
			AU 1534502 A	22-04-2002
			CA 2425569 A1	18-04-2002
			WO 0230268 A2	18-04-2002
			US 2003087245 A1	08-05-2003
EP 1217066	A	26-06-2002	EP 1217066 A1	26-06-2002
			AU 3330002 A	01-07-2002
			WO 0250114 A2	27-06-2002
WO 03009814	A	06-02-2003	WO 03009814 A2	06-02-2003
			US 2003108963 A1	12-06-2003
WO 02059373	A	01-08-2002	CA 2432991 A1	01-08-2002
			EP 1425413 A2	09-06-2004
			WO 02059373 A2	01-08-2002
			US 2003013097 A1	16-01-2003

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 03/02159

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C12Q1/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
EPO-Internal, WPI Data, PAJ, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, Sequence Search

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DATABASE GENESEQ [Online] EBI; 19. Juli 2001 (2001-07-19), XU ET AL.: "Human prostate-specific 1st amino acid sequence for P510S" XP002270639 Database accession no. AAM01179 Zusammenfassung - & WO 01/51633 A 19. Juli 2001 (2001-07-19) Siehe S. 62-67, 81-89, 91, 129, 194-205	1-3, 10, 13
X		1-5, 7-10, 12, 13
X	DATABASE GENESEQ [Online] EBI; "Human prostate-specific 1st full length cDNA sequence for P510S" XP002270640 Database accession no. AAH93828 Zusammenfassung -/-	1-3, 10, 14

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

3. März 2004

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

10. 09. 2004

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040 Tx. 31 651 epo nl.

Bevollmächtigter Bediensteter

Ungermaier S

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 03/02159

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	-& WO 01/51633 A 19. Juli 2001 (2001-07-19) Siehe S. 62-67,81-89,91,129,194-205 -----	1-5, 7-10,12, 14
X	DATABASE GENESEQ [Online] Prostate cancer-associated protein #21 18. April 2002 (2002-04-18), GISH ET AL.: "Detecting a prostate cancer-associated transcript in a cell in a patient, useful for diagnosing prostate cancer or screening modulators of prostate cancer" XP002270644 Database accession no. ABG61820 Zusammenfassung	1-3,10, 13
X	-& WO 02/30268 A 18. April 2002 (2002-04-18) Siehe S. 54-70,86,168 (Tab.7 "AF071202") -----	1-5, 7-10,12, 13
X	DATABASE GENESEQ [Online] EBI; Human prostate cDNA encoded protein #32 4. Oktober 2001 (2001-10-04), XU ET AL.: XP002270642 Database accession no. AAU69824 Zusammenfassung -----	1-3,10, 13
X	DATABASE GENESEQ [Online] EBI; Human prostate cDNA sequence #438 4. Oktober 2001 (2001-10-04), XP002270641 Database accession no. AAS63921 Zusammenfassung -----	1-3,10, 14
X	DATABASE GENESEQ [Online] EBI; Human prostate expression marker cDNA 25378 23. August 2001 (2001-08-23), SCHLEGEL ET AL.: "Novel isolated nucleic acid molecule associated with cancerous state of prostate cells and correlating with presence of prostate cancer, useful for detecting presence of prostate cancer, stage of prostate cancer" XP002270643 Database accession no. ABV25387 Zusammenfassung -----	1-3,10, 14
X	EP 1 217 066 A (UNIV GENT) 26. Juni 2002 (2002-06-26) Siehe S. 277 das ganze Dokument -----	3,13

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 03/02159

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	BORST P ET AL: "A family of drug transporters: the multidrug resistance-associated proteins." JOURNAL OF THE NATIONAL CANCER INSTITUTE. UNITED STATES 16 AUG 2000, Bd. 92, Nr. 16, 16. August 2000 (2000-08-16), Seiten 1295-1302, XP009013640 ISSN: 0027-8874 -----	
P,X	WO 03/009814 A (GANNAVARAPU MANJULA ;GORBATCHEVA BELLA (US); GLATT KAREN (US); AND) 6. Februar 2003 (2003-02-06) Siehe Seq. ID 1 und Seq.ID 2. das ganze Dokument -----	1-5, 7-10, 12-14
P,X	WO 02/059373 A (IRM LLC ;HAMPTON GARRET MALCOLM (US); WELSH JOHN BARNARD (US)) 1. August 2002 (2002-08-01) Siehe Tab. 4, S. 43 das ganze Dokument -----	1-5, 7-10, 12-14

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE 03/02159

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr. 10 (teilweise), 11 (vollständig)
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
siehe BEIBLATT PCT/ISA/210
2. ☒ Ansprüche Nr. 4,8,9,12 (alle teilweise), 6 (vollständig)
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen,
daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
siehe BEIBLATT PCT/ISA/210
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☒ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:
1, 2, 4-9, 11 (alle teilweise)

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.1

Ansprüche Nr.: 10 (teilweise), 11 (vollständig)

Anspruch 11: Regel 39.1(iv) PCT - Verfahren zur therapeutischen Behandlung des menschlichen oder tierischen Körpers

Die Recherche für die in Anspruch 10 beanspruchten Verfahren, wurde auf Verfahren beschränkt, die keine Schritte umfassen, die am menschlichen oder tierischen Körper vorgenommen werden (Regel 39.1(iv) PCT).

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 4,8,9,12 (alle teilweise), 6 (vollständig)

Die geltenden Patentansprüche 4,6,8,9 beziehen sich auf Verfahren zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Prostata Tumorerkrankung, wobei die in diesen Verfahren zu verwendenden Substanzen durch unklare technische Merkmale definiert werden. Den Patentansprüchen 4,6,8,9 fehlt daher die in Art. 6 PCT geforderte Klarheit derart, daß eine sinnvolle Recherche über den gesamten beanspruchten Schutzbereich nicht möglich war. Daher wurde die Recherche auf die Teile der Patentansprüche 4,8,9 gerichtet, welche die Substanzen betreffen, die in den Ansprüchen 5 und 7 angegeben sind.

Der Patentanspruch 12 bezieht sich auf eine Zusammensetzung, enthaltend zwei Komponenten A und B, wobei Komponente A eine Substanz nach einem der Ansprüche 4-8 ist. Die Recherche wurde entsprechend auf die Teile des Patentanspruchs 12 eingeschränkt, welche die Substanzen betreffen, die in den Ansprüchen 5 und 7 angegeben sind.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, dass Patentansprüche auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit, der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, dass die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, dass der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäss Kapitel II PCT neue Patentanprüche vorlegt. Nach Eintritt in die regionale Phase vor dem EPA kann jedoch im Zuge der Prüfung eine weitere Recherche durchgeführt werden (Vgl. EPA-Richtlinien C-VI, 8.5), sollten die Mängel behoben sein, die zu der Erklärung gemäss Art. 17 (2) PCT geführt haben.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, dass diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1,2,4-9,11 (alle teilweise)

Verwendung einer für Mrp4 codierenden Nukleinsäure und/oder eines Mrp4 Peptids oder Proteins zum Nachweis von Prostata Tumoren oder zum Nachweis eines Risikos der Erkrankung, wobei eine Prostata Gewebeprobe auf eine Übertranskription von Mrp4 RNA oder auf Überexpression eines Mrp4 Proteins untersucht wird; Verwendung einer Mrp4 inhibierenden oder daran bindenden Substanz zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Prostata Tumoren.

2. Ansprüche: 1,2,4-9,11 (alle teilweise)

Verwendung einer für Mrp4 codierenden Nukleinsäure und/oder eines Mrp4 Peptids oder Proteins zum Nachweis von Blasen Tumoren oder zum Nachweis eines Risikos der Erkrankung, wobei eine Blasen Gewebeprobe auf eine Übertranskription von Mrp4 RNA oder auf Überexpression eines Mrp4 Proteins untersucht wird; Verwendung einer Mrp4 inhibierenden oder daran bindenden Substanz zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Blasen Tumoren.

3. Ansprüche: 1,2,4-9,11 (alle teilweise)

Verwendung einer für Mrp4 codierenden Nukleinsäure und/oder eines Mrp4 Peptids oder Proteins zum Nachweis von Ovar Tumoren oder zum Nachweis eines Risikos der Erkrankung, wobei eine Ovar Gewebeprobe auf eine Übertranskription von Mrp4 RNA oder auf Überexpression eines Mrp4 Proteins untersucht wird; Verwendung einer Mrp4 inhibierenden oder daran bindenden Substanz zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Ovar Tumoren.

4. Anspruch: 3 (vollständig)

Verwendung einer Mrp4 RNA oder eines Mrp4 Proteins oder Peptids zum Screenen nach daran bindenden Substanzen.

5. Anspruch: 10 (vollständig)

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Verfahren zur Diagnose einer Prostata-und/oder Blasen-und/oder Ovariumtumorerkrankung, insbesondere zur Diagnose resistenter Tumoren, wobei eine Detektorsubstanz in zu untersuchendes Gewebe appliziert wird.

6. Anspruch: 12 (vollständig)

Pharmazeutische Zusammensetzung enthaltend zumindest zwei Komponenten A und B, wobei Komponente A eine Mrp4 inhibierende oder daran bindende Substanz und Komponente B ein Antikrebs-Wirkstoff ist.

7. Ansprüche: 13,14 (vollständig)

Ein Mrp4 Protein oder Peptid enthaltend eine Teilsequenz von zumindest 4 Aminosäuren aus Seq.ID 10; eine für dieses Protein oder Peptid codierende Mrp4 Nukleinsäure, insbesondere enthaltend eine Teilsequenz von zumindest 12 Nukleotiden aus Seq. ID 9.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 03/02159

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 0151633	A	19-07-2001	AU	3447401 A	24-07-2001
			AU	6158700 A	30-01-2001
			BR	0107643 A	10-06-2003
			CA	2378846 A1	18-01-2001
			CA	2397741 A1	19-07-2001
			CN	1436234 T	13-08-2003
			CZ	20022756 A3	12-02-2003
			WO	0104143 A2	18-01-2001
			EP	1194571 A1	10-04-2002
			EP	1261708 A2	04-12-2002
			HU	0203968 A2	28-03-2003
			JP	2003504080 T	04-02-2003
			JP	2003528591 T	30-09-2003
			NO	20023402 A	29-08-2002
			PL	356908 A1	12-07-2004
			WO	0151633 A2	19-07-2001
			US	2003157089 A1	21-08-2003
			US	2003185830 A1	02-10-2003
			US	6620922 B1	16-09-2003
			US	6759515 B1	06-07-2004
			US	6630305 B1	07-10-2003
			US	2002022248 A1	21-02-2002
			US	2002051977 A1	02-05-2002
			US	2002193296 A1	19-12-2002
			ZA	200206400 A	21-01-2004
WO 0230268	A	18-04-2002	US	2002068036 A1	06-06-2002
			AU	1534502 A	22-04-2002
			CA	2425569 A1	18-04-2002
			WO	0230268 A2	18-04-2002
			US	2003087245 A1	08-05-2003
EP 1217066	A	26-06-2002	EP	1217066 A1	26-06-2002
			AU	3330002 A	01-07-2002
			WO	0250114 A2	27-06-2002
WO 03009814	A	06-02-2003	WO	03009814 A2	06-02-2003
			US	2003108963 A1	12-06-2003
WO 02059373	A	01-08-2002	CA	2432991 A1	01-08-2002
			EP	1425413 A2	09-06-2004
			WO	02059373 A2	01-08-2002
			US	2003013097 A1	16-01-2003

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.